

基于 *nrDNA* ITS 和 *cpDNA trnL-F* 序列探讨薤白的系统地位*

黄德青^{1,2}, 李琴琴³, 周颂东¹, 何兴金^{1**}

(1 四川大学生命科学院, 生物资源与生态环境教育部重点实验室, 成都 610065; 2 桂林医学院药学院, 桂林 541004; 3 内蒙古师范大学生命科学与技术学院, 呼和浩特 010022)

摘要: 薤白 (*Allium macrostemon*) 是葱属中重要的药食同源种类, 其系统地位和分类等级迄今尚无统一结论, 一直存有争议。为了探讨其系统位置及其与相关类群的亲缘关系, 本研究利用 *nrDNA* ITS 和 *cpDNA trnL-F* 序列数据对该种及若干近缘类群进行了系统发育分析。基于贝叶斯法和最大简约法构建的系统树均表明薤白为一单系种, 与多系的组 *Caerulea*、*Pallasia* 的部分种类有密切的系统发育关系, 而与组 *Codonoprasum* 和 *Allium* 的种类关系疏远; 结合总苞、花丝和子房等形态学特征, 不支持将薤白划归 *Allium* 组或置于广义的 *Scorodon* 组。薤白可能代表一个新的组一级的类群, 但尚待增加类群采样 (尤其是中亚的种类) 进一步研究。本文还在系统发育框架下探讨了中药薤白 (*Allii Macrostemonis Bulbus*) 的基源植物 (薤白、蒿头、棱叶韭和长梗韭) 及 *Pallasia* 组部分物种的系统位置。

关键词: 葱属; 薤白; ITS; *trnL-F*; 系统位置

中图分类号: Q 949

文献标志码: A

文章编号: 2095-0845(2015)05-537-09

Systematic Position of *Allium macrostemon* Based on *nrDNA* ITS and *cpDNA trnL-F* Sequence Data

HUANG De-qing^{1,2}, LI Qin-qin³, ZHOU Song-dong¹, HE Xing-jin^{1**}

(1 Key Laboratory of Bio-Resources and Eco-Environment of Ministry of Education, College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610065, China; 2 School of Pharmacy, Guilin Medical University, Guilin 541004, China; 3 College of Life Science and Technology, Inner Mongolia Normal University, Hohhot 010022, China)

Abstract: *Allium macrostemon* is an important medicinal and edible plant. Its systematic position and taxonomical classification remain controversial to date. To explore this issue, we reconstructed phylogenetic relationships among *A. macrostemon* and other related taxa using *nrDNA* ITS and *cpDNA trnL-F* markers. The phylogenetic trees derived from Bayesian inference and maximum-parsimony analysis showed that *A. macrostemon* is monophyletic, and has a close relationship with some species of polyphyletic sections *Caerulea* and *Pallasia* instead of sections *Codonoprasum* and *Allium*. The including of *A. macrostemon* within section *Allium* was not supported by both molecular data and morphological characters of spathe, filaments and ovary. *Allium macrostemon* should be included in a new section, however further studies using additional samples (especially those from Central Asia) is necessary. In addition, we also provided a discussion on the phylogenetic relationships among four original plants (*A. macrostemon*, *A. chinense*, *A. caeruleum* and *A. neriniflorum*) of *Allii Macrostemonis Bulbus* and systematic position of partial species of section *Pallasia*.

Key words: *Allium*; *A. macrostemon*; ITS; *trnL-F*; Systematic position

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31270241); 国家基础条件平台教学标本资源共享平台 (<http://mnh.scu.edu.cn/>); 广西自然科学基金青年基金 (2013GXNSFBA019108)

** 通讯作者: Author for correspondence; E-mail: xjhe@scu.edu.cn

收稿日期: 2014-12-20, 2015-02-20 接受发表

作者简介: 黄德青 (1980-) 男, 博士, 副教授, 主要从事药用植物的系统分类与分子鉴定研究。E-mail: huangdeqing2008@163.com

薤白 (*Allium macrostemon* Bunge) 隶属广义石蒜科 (Amaryllidaceae s. l.) 葱属 (*Allium* L.) (Li 等, 2010), 其鳞茎可入药, 也可作蔬菜食用 (许介眉, 1980), 是卫生部 2002 年公布的 87 种药食两用物品之一, 也是历版《中华人民共和国药典》收录的中药薤白 (*Allii Macrostemonis* Bulbus) 的基源植物之一。在我们收集整理有关薤白的文献资料过程中, 发现该种异名甚多, 如包括《中华人民共和国药典》(国家药典委员会, 2010) 在内的文献所用的小根蒜、国外文献常见的 *A. grayi* Regel 等, 使用颇为混乱, 加上该种中文名与中药名称相同, 致使对中药薤白基源植物的记载亦较为混乱, 如称为“薤白”的还有菹头 (*A. chinense* G. Don)、棱叶韭 (*A. caeruleum* Pallas) 和长梗韭 (*A. neriniflorum* (Herbert) G. Don) 等种类 (国家中医药管理局, 1999), 这些问题的存在对薤白的研究、使用乃至生产流通等诸多方面均增加了不少困难。在地理分布上, 现有资料通常记载薤白广布于东亚地区 (Kawano 和 Nagai, 1975; Friesen, 1995; Xu 和 Kamelin, 2000; Choi 和 Oh, 2011), 现今在中国、韩国和日本均有栽培 (Fritsch 和 Friesen, 2002)。关于该种的地理起源, 迄今尚无研究报道, 其中 Fritsch 和 Friesen (2002) 的观点值得关注, 他们认为薤白原产于中国中北部和蒙古, 后经驯化成为栽培作物, 之后才传至朝鲜半岛和日本。他们的这一见解是否正确有待今后进一步研究和考证。在薤白的分类方面, 该种因其花序上常具或全为珠芽 (bulbils) 这一特性的存在, 分类学者曾以此作为分类诊断特征, 命名过诸如能正常开花结实的密花小根蒜 *A. uratense* Franch. (= *A. macrostemon* Bunge var. *uratense* (Franch.) Airy Shaw)、花序上全为珠芽的狭义薤白 (*A. macrostemon* s. str.) 等种下类群, 目前其物种分类问题已基本澄清 (Choi 和 Oh, 2011)。

在系统发育上, 已有的研究显示, 薤白为葱属 *Allium* 亚属的一员, 但其在 *Allium* 亚属中的系统地位和分类等级尚存有争议。许介眉先生 (1980) 曾以鳞茎单生的性状将薤白归入单生组 *Haplostemon* Boiss., 但现代的分子系统学研究已证实其属多系组 (Friesen 等, 2006), 因此这一分类处理应当摒弃。Hanelt 等 (1992) 以总苞、

花丝和子房等联合特征将薤白置于 *Scorodon* Koch s. l. 组之下, 但该组种类因形态上的高度异质性 (如种皮纹饰、叶序特征、子房解剖特征等) (Hanelt, 1996), 已被 Khassanov (1997, 2000) 细分成若干小的类群, 如组 *Avulsea* F. O. Khassanov、*Caerulea* (Omelcz.) F. O. Khassanov、*Kopetdagia* F. O. Khassanov、*Minuta* F. O. Khassanov 等, 这也得到了分子系统学研究的支持 (Fritsch 和 Friesen, 2002)。Friesen 等 (2006) 进一步把该组中鳞茎具根状茎及网状至纤维状被膜的种类分出, 组成狭义的 *Scorodon* 组并转移至 *Polyprason* Radić 亚属之下, 同时认为薤白可能代表了一个新的组一级的类群。

Nguyen 等 (2008) 和 Hirscheegger 等 (2010) 基于 ITS 序列数据分别对葱属和 *Allium* 亚属进行了系统发育分析, 结果显示薤白均嵌套在 *Codonoprasum* Reichenb. 组内, 与 *A. melanatherum* Pančić 等类群 (欧洲巴尔干半岛) 或 *A. oleraceum* L. (高加索至欧洲地区) 构成姊妹关系, 其中后者在生长习性和繁殖策略以及在染色体倍性等方面与薤白颇为相似 (Kawano 和 Nagai, 1975; Åström 和 Hægström, 2004; Duchoslav, 2011), 但他们均未对薤白的系统地位给予评价。Li 等 (2010) 基于较为全面的类群取样, 以 ITS 序列对世界葱属的系统发育重建显示, 薤白与 *Codonoprasum* 组的种类并不相关, 而是与中亚的 *Kopetdagia*、*Caerulea*、*Pallasia* (Tzag.) F. O. Khassanov, R. M. Fritsch et N. Friesen 等组的种类密切相关 (其 *rps16* 序列数据显示薤白与 *Caerulea* 组的棱叶韭 *A. caeruleum* Pallas 近缘); 但作者却将薤白置于以大蒜 *A. sativum* L. 为模式的 *Allium* 组, 这一分类安排有待商榷。尽管 Choi 等 (2012) 基于 ITS 和 *trnL-F* 序列及种皮形态的数据支持薤白与棱叶韭近缘, 但由于仅对 *Allium* 亚属的这两个种进行了取样, 并不能证实二者有直接的亲缘关系, 所以他们仍置薤白于广义的 *Scorodon* 组之下。由此可见, 已有研究对薤白的系统地位和分类等级尚无统一论, 需进一步研究和探讨。

近年来的分子系统学研究已为世界葱属的系统发育关系提供了全新的证据和框架。本研究以 Friesen 等 (2006) 提供的系统框架为基础, 对薤白及若干近缘类群的代表种进行 *nrDNA* ITS 片段

和叶绿体基因 *trnL-F* 序列的系统发育分析，并结合形态学和细胞学证据，对薤白的系统地位和分类等级进行探讨。同时，本文还在系统发育框架下对中药薤白的基源植物（薤白、藠头、棱叶韭和长梗韭）及 *Pallasia* 组部分物种的系统位置进行了探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究对产自中国的 11 个薤白居群及若干近缘类群的代表种进行了野外调查和取样（表 1）。以单花韭 *A. monanthum* Maxim. 和多星韭 *A. wallichii* Kunth 为外类群，结合已报道的葱属分子数据（Friesen 等, 2006; Hirschegger 等, 2010; Li 等, 2010），本研究共涉及葱属 43 个种的 *nrDNA ITS* 序列和 28 个种的 *trnL-F* 序列，涵盖了 Friesen 等（2006）葱属分类系统的 7 亚属 17 个组。实验材料信息见表 1，凭证标本存放于四川大学标本馆（SZ）。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取及 PCR 扩增、纯化和测序 总 DNA 的提取采用改进的 CTAB 法（Doyle 和 Doyle, 1987）。ITS

和 *trnL-F* 序列的扩增分别参照 Li 等（2010）和 Choi 等（2012）提供的程序进行。PCR 产物在 1.5% 的琼脂糖凝胶上电泳（0.5% × TBE）分离后割胶回收，使用 DNA 纯化试剂盒（Promega, Madison, WI, USA）纯化。纯化后样品测序工作由上海英俊生物有限公司测序部完成。所用测序仪器为 ABI 310 Genetic Analyzer（Applied Biosystems Inc.），测序所用引物与 PCR 引物相同，正反双向测序。

1.2.2 数据分析 测序所得序列利用 SeqMan（DNAs-tar）（Burland, 2000）程序进行编辑和组装；从 GenBank 中下载的序列用该软件中的 Editseq 程序进行编辑。采用 Mega 5 中的 CLUSTAL W（Tamura 等, 2011）对序列进行对位排序。利用最大简约法（Maximum Parsimony, MP）和贝叶斯推断（Bayesian inference, BI）对两个数据矩阵（ITS 和 *trnL-F* 矩阵）进行系统发育分析。利用 PAUP* ver. 4.0b10（Swofford, 2003）进行 MP 分析。对排好的序列中所有的碱基同等加权（equal weighted）并作为无序（unordered）性状，空位（gap）作为缺失（missing）处理。采用启发式搜索（heuristic search）进行 1 000 次随机添加（random addition），以 TBR（tree-bisection-reconnection）进行枝长交换获取分支树，每步保存 10 棵树。对系统发育的拓扑结构的可靠性通过自展法（bootstrap, BS）来检验，

表 1 实验材料采集信息及 GenBank 序列号

Table 1 Collection information and GenBank accession numbers

分类 Classification (Friesen 等, 2006)	类群 Taxa	采集地 Coll. locality	凭证标本 Voucher No.	GenBank Accession No.	
				ITS	trnL-F
Subg. <i>Allium</i>					
Sect. ?	<i>A. macrostemon</i> Bunge 1	四川汶川 Wenchuan, Sichuan	L09060601	GU566613 ^a	KF693251
	<i>A. macrostemon</i> 2	陕西汉中 Hanzhong, Shanxi	L2008092502	JF975842 ^a	KF693252
	<i>A. macrostemon</i> 3	四川江油 Jiangyou, Sichuan	H20110305	KF693239	KF693253
	<i>A. macrostemon</i> 4	云南迪庆虎跳峡 Hutiaoxia, Diqing, Yunnan	H11100509	KF693240	KF693254
	<i>A. macrostemon</i> 5	云南迪庆三坝 Sanba, Diqing, Yunnan	H11100606	KF693241	KF693255
	<i>A. macrostemon</i> 6	云南昆明 Kunming, Yunnan	L20081102	KF693242	KF693256
	<i>A. macrostemon</i> 7	广西桂林 Guilin, Guangxi	H20110219	KF693243	KF693257
	<i>A. macrostemon</i> 8	四川峨眉山 Emeishan, Sichuan	T2012060603	KF693244	KF693258
	<i>A. macrostemon</i> 9	陕西宝鸡 Baoji, Shanxi	S11102502	KF693245	KF693259
	<i>A. macrostemon</i> 10	陕西安康 Ankang, Shanxi	L2008092101	JF975843 ^a	KF693260
	<i>A. macrostemon</i> 11	黑龙江牡丹江 Mudanjiang, Heilongjiang	Z20110701	—	KF693261
Sect. <i>Allium</i>	<i>A. macrostemon</i>	韩国 Korea	—	GQ412213 ^a	JF262658 ^a
	<i>A. ampeloprasum</i> L.			FJ664289 ^a	EU626248 ^a
	<i>A. atroviolaceum</i> Boiss.			EU626324 ^a	EU626241 ^a
	<i>A. dregeanum</i> Kunth			AJ411962 ^a	—
	<i>A. iranicum</i> (Wendelbo) Wendelbo			AJ411961 ^a	EU626242 ^a
	<i>A. porrum</i> L.			AY427543 ^a	—
	<i>A. sativum</i> L.			AF037621 ^a	EU626261 ^a

续表 1 Table 1 continued

分类 Classification (Friesen 等, 2006)	类群 Taxa	采集地 Coll. locality	凭证标本 Voucher No.	GenBank Accession No.	
				ITS	trnL-F
Sect. <i>Brevidentia</i>	<i>A. scorodoprasum</i> L.			AJ412713 ^a	FJ628600 ^a
	<i>A. sphaerocephalon</i> L.			AJ412717 ^a	—
	<i>A. brevidens</i> Vved.			AJ412721 ^a	—
Sect. ?	<i>A. haneltii</i> F. O. Khass. & R. M. Fritsch			AJ412725 ^a	—
Sect. <i>Caerulea</i>	<i>A. caeruleum</i> Pall. 1	新疆察布查尔 Qapqal, Xinjiang	H11070203	KF693246	KF693262
	<i>A. caeruleum</i> Pall. 2	新疆昭苏 Zhaosu, Xinjiang	H11070303	KF693247	KF693263
	<i>A. caesium</i> Schrenk			AJ412731 ^a	—
Sect. <i>Codonoprasum</i>	<i>A. elegans</i> Drobow			AJ412730 ^a	—
	<i>A. litvinovii</i> Drobow ex Vved.			AJ412727 ^a	—
	<i>A. melanantherum</i> Panic			AJ412739 ^a	—
	<i>A. oleraceum</i> L.			FJ664286 ^a	FJ628602 ^a
Sect. <i>Kopetdagia</i>	<i>A. paniculatum</i> L.			AJ411949 ^a	—
	<i>A. eremoprasum</i> Vved.			AJ412726 ^a	—
	<i>A. kopetdagense</i> Vved.			AJ411950 ^a	—
Sect. <i>Pallasia</i>	<i>A. eusperma</i> Airy Shaw	四川巴塘 Batang, Sichuan	B03	GQ181067 ^a	KF693264
	<i>A. glomeratum</i> Prokh.	新疆乌鲁木齐 Urumchi, Xinjiang	H11062601	KF693248	KF693265
	<i>A. pallasii</i> Murr. 1	新疆乌鲁木齐 Urumchi, Xinjiang	H110623	KF693249	KF693266
	<i>A. pallasii</i> Murr. 2	新疆昭苏 Zhaosu, Xinjiang	H11070301	KF693250	KF693267
	<i>A. schoenoprasoides</i> Regel	新疆察布查尔 Zhaosu, Xinjiang	H11070206	AJ412728 ^a	KF693268
	<i>A. tanguticum</i> Regel	青海左道 Zuodao, Qinghai	20080701	GQ181089 ^a	GU570992 ^a
Subg. <i>Cepa</i>					
Sect. <i>Cepa</i>	<i>A. cepa</i> L.			AM418370 ^a	FJ628603 ^a
	<i>A. fistulosum</i> L.			AJ411918 ^a	FJ628604 ^a
Sect. <i>Condensatum</i>	<i>A. condensatum</i> Turcz. 1	内蒙古大青山 Daqingshan, Inner Mongolia	97827	GQ181098 ^a	JF262660 ^a
	<i>A. condensatum</i> Turcz. 2	黑龙江佳木斯 Jiamusi, Heilongjiang	0922	HQ690573 ^a	—
Sect. <i>Sacculiferum</i>	<i>A. chinense</i> G. Don	云南大理 Dali, Yunnan	H11101002	AJ411848 ^a	KF693269
	<i>A. thunbergii</i> G. Don			AJ411849 ^a	JF262663 ^a
Subg. <i>Polyprason</i>					
Sect. <i>Falcatifolia</i>	<i>A. carolinianum</i> DC.	新疆乌鲁木齐 Urumchi, Xinjiang	97656	GQ181097 ^a	KF693270
	<i>A. platyspathum</i> Schrenk	新疆昭苏 Zhaosu, Xinjiang	H11070208	AJ411878 ^a	KF693271
Sect. <i>Oreiprason</i>	<i>A. saxatile</i> M. Bieb.	新疆托里 Tuoli, Xinjiang	H11070702	GQ181108 ^a	KF693272
Sect. <i>Scorodon</i> s. s	<i>A. inaequale</i> Janka			AJ412735 ^a	—
	<i>A. moschatum</i> L.			AJ411872 ^a	—
	<i>A. pamiricum</i> Wendelbo			AJ412736 ^a	—
Subg. <i>Reticulobulbosa</i>					
Sect. <i>Campanulata</i>	<i>A. teretifolium</i> Regel	新疆特克斯 Tekes, Xinjiang	H1107030601	AJ411886 ^a	KF693273
Sect. <i>Reticulobulbosa</i>	<i>A. lineare</i> L.	新疆乌鲁木齐 Urumchi, Xinjiang	97606	GQ181103 ^a	KF693274
	<i>A. strictum</i> Schrad.	新疆托里 Tuoli, Xinjiang	97636	GU566621 ^a	JF262650 ^a
Subg. <i>Caloscordum</i>					
Sect. <i>Caloscordum</i>	<i>A. neriniflorum</i> (Herb.) Baker			AJ411913 ^a	JF262642 ^a
	<i>A. tubiflorum</i> Rendle	陕西华山 Huashan, Shanxi	C072804	GU566622 ^a	KF143837
外类群 Outgroup taxon					
Subg. <i>Amerallium</i>					
Sect. <i>Bromatorrhiza</i>	<i>A. wallichii</i> Kunth	四川康定 Kangding, Sichuan	2008081203	GQ181091 ^a	JX017731
Subg. <i>Microscordum</i>					
Sect. <i>Microscordum</i>	<i>A. monanthum</i> Maxim.			AJ412745 ^a	JF262636 ^a

^a Sequences obtained from GenBank

进行 1 000 000 次重复取样。贝叶斯分析使用 MrBayes ver. 3. 1. 2 (Ronquist 和 Huelsenbeck, 2003)。首先利用 MrModeltest ver. 2. 2 (Nylander, 2004) 进行模型和参数估计, 基于赤池信息量准则 (Akaike information criterion, AIC) 选择最适碱基替代模型。ITS 和 trnL-F 矩阵的最适模型分别为 GTR+I+G 和 HKY+I。贝叶斯推断以随机树 (random tree) 开始分析, 4 条马尔可夫链 (Markov Chain Monte Carlo, MCMC) 同时运行, 温度参数值设为 0. 2, 共运行 2 000 000 代, 每 100 代保留 1 棵树。前 25% 代作为动态老化样本 (burn-in samples) 被舍弃, 仅对剩余的静态抽样计算一致性树 (consensus tree) 并计算相关参数, 一致性树上的各分支可信度评价用后验概率 (posterior probability, PP) 表示。

2 结果

2.1 序列特征

本研究共获得 56 条 ITS 序列和 41 条 trnL-F 序列。对于 ITS 数据集, 序列长度介于 614 (*A. brevidens*) ~ 653 bp (*A. monanthum*), 对位排列的长度为 694 bp, 其中 218 个位点为不变位点, 402 个位点为简约信息位点; 在 trnL-F 数据集中, 序列长度范围为 584 (*A. neriniflorum*) ~ 655 bp (*A. saxatile*), 对位排列的长度为 703 bp, 其中 585 个位点为不变位点, 65 个位点为简约信息位点。

2.2 系统发育分析

基于 ITS 序列构建的贝叶斯树在拓扑结构上较最大简约树 [tree length = 1654, Consistency index (CI) = 0. 5018, Retention index (RI) = 0. 7702] 更好地解决了分支间的关系, 因此显示的是贝叶斯树 (图 1)。两种分析方法均表明薤白为一单系种 (PP = 100, BS = 100), 与不为单系的 *Caerulea*、*Kopetdagia*、*Pallasia* 组的部分种类以及 *A. haneltii* 形成一个高支持率的 Clade C (PP = 100, BS = 97), 表明它们之间有密切的系统发育关系。另外, 亚属 *Allium* (Clade A-D)、*Cepa*、*Reticulobulbosa* 和 *Polyprason* 均不为单系群 (monophyletic group)。

基于 trnL-F 序列构建的贝叶斯树与最大简约树 (tree length = 149, CI = 0. 8792, RI = 0. 9268) 在拓扑结构上非常相似, 图 2 显示的是贝叶斯树。两种分析方法均支持薤白为一单系种 (PP = 100, BS = 91), 与不为单系的 *Pallasia* 组的部分种类、*Caerulea* 组构成一个高支持率的 Clade C

(PP = 100, BS = 69), 表明它们之间有密切的系统发育关系。亚属 *Allium* (Clade A-D)、*Cepa*、*Reticulobulbosa* 和 *Polyprason* 也均未构成单系群。

3 讨论

Allium 亚属是葱属中最大的类群, 约 300 多种 (Friesen 等, 2006), 其多样化中心发生在地中海至中亚的广大干旱地区 (Hanelt 等, 1992)。由于其种类繁多且类群间缺乏清晰的分类界限, 致使它的分类异常困难 (Hanelt, 1996)。最近的分子系统学研究 (Friesen 等, 2006; Li 等, 2010) 和本研究均表明, 根据鳞茎特征 (单生近球状, 被膜膜质或纸质) 界定的 *Allium* 亚属以及依据总苞、花丝和子房等联合特征界定的大多数组均不为单系类群, 与亚属 *Cepa*、*Reticulobulbosa* 和 *Polyprason* 的种类相互嵌套, 这与基于形态学的传统分类存在明显的冲突, 因此这四个亚属的分类界限以及它们之间的演化关系是目前葱属中亟待解决的系统学问题, 未来仍需开展大量的工作。

本研究构建的 ITS 和 trnL-F 系统发育树均表明薤白为一单系种, 与不为单系的组 *Caerulea*、*Kopetdagia*、*Pallasia* 的部分种类以及 *A. haneltii* 有密切的亲缘关系 (图 1, 2)。这与 Li 等 (2010) 基于 ITS 的研究结果相一致, 但与 Fritsch 和 Friesen (2002)、Nguyen 等 (2008) 和 Hirschegger 等 (2010) 的研究结果不同, 他们的“薤白” (ITS GenBank No. AJ412738, 采自蒙古东部的马塔德) 嵌套在 *Codonoprasum* 组中, 该组属于典型的地中海类群 (Hanelt, 1996), 其种类以总苞不等二裂且常比花序长、花丝简单、子房蜜腺不明显等为主要特征 (Brullo 等, 2008), 而薤白总苞比花序短且具有帘的凹陷蜜腺 (许介眉, 1980), 明显不属于 *Codonoprasum* 组, 这或许也是 Friesen 等 (2006) 认为薤白可能代表一个新的组一级的类群的原因。针对上述分子数据间的冲突, 我们通过序列比对和系统分析, 发现他们的“薤白”与小山蒜 *A. pallasii* Murr. 的 ITS 序列最为接近, 但小山蒜在蒙古东部并无分布记录 (Friesen, 1995), 因此推断他们的结果应是技术方面的原因所致, 而不是物种鉴定的问题。Li 等 (2010) 认为薤白应属于 *Allium* 组, 而本研究基

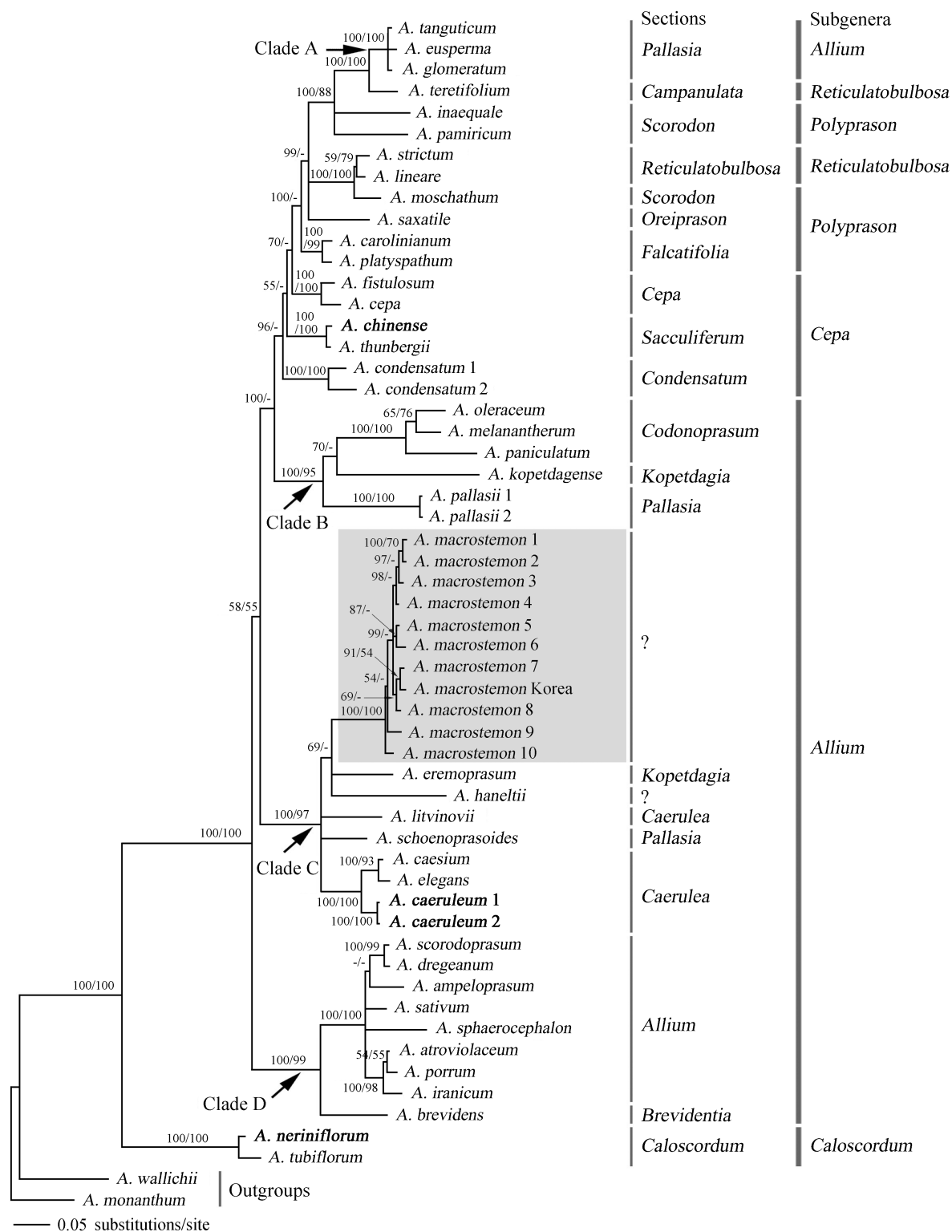


图 1 基于 ITS 序列的贝叶斯系统发育树。右边亚属和组的划分是依据 Friesen 等 (2006) 的研究结果。沿着节点的数值分别代表贝叶斯后验概率和简约自展值。灰色区域和粗体的学名表示与中药薤白有关的类群。Clade A-D 表示 *Allium* 亚属的四个分支

Fig. 1 Phylogenetic tree inferred from Bayesian analysis of the ITS sequences. The taxonomy of subgenera and sections following the classification by Friesen *et al.* (2006) is indicated on the right. Bayesian posterior probabilities (PP) and parsimony bootstrap support (BS) values are shown at nodes, respectively. The region given in gray and scientific names given in bold denote related original plants of *Allii Macrostemonis Bulbus*. Clade A-D represents four identified clades of subgenus *Allium* in this study

于 *ITS* 和 *trnL-F* 的系统树均表明薤白与 *Allium* 组的种类并不相关, 不支持 Li 等 (2010) 将薤白归入 *Allium* 组的分类处理。形态上, *Allium* 组的种类总苞常不裂且易早落, 内轮花丝基部具长丝状的细齿, 且常具异常长的随体染色体 (Hanelt 等,

1992), 而薤白的总苞二裂且宿存, 内轮花丝不具长丝状细齿 (Xu 和 Kamelin, 2000), 其随体染色体远短于短臂 (朱世梅和许介眉, 1999; 赵露露等, 2012), 因此, 将薤白置于 *Allium* 组是不合适的。

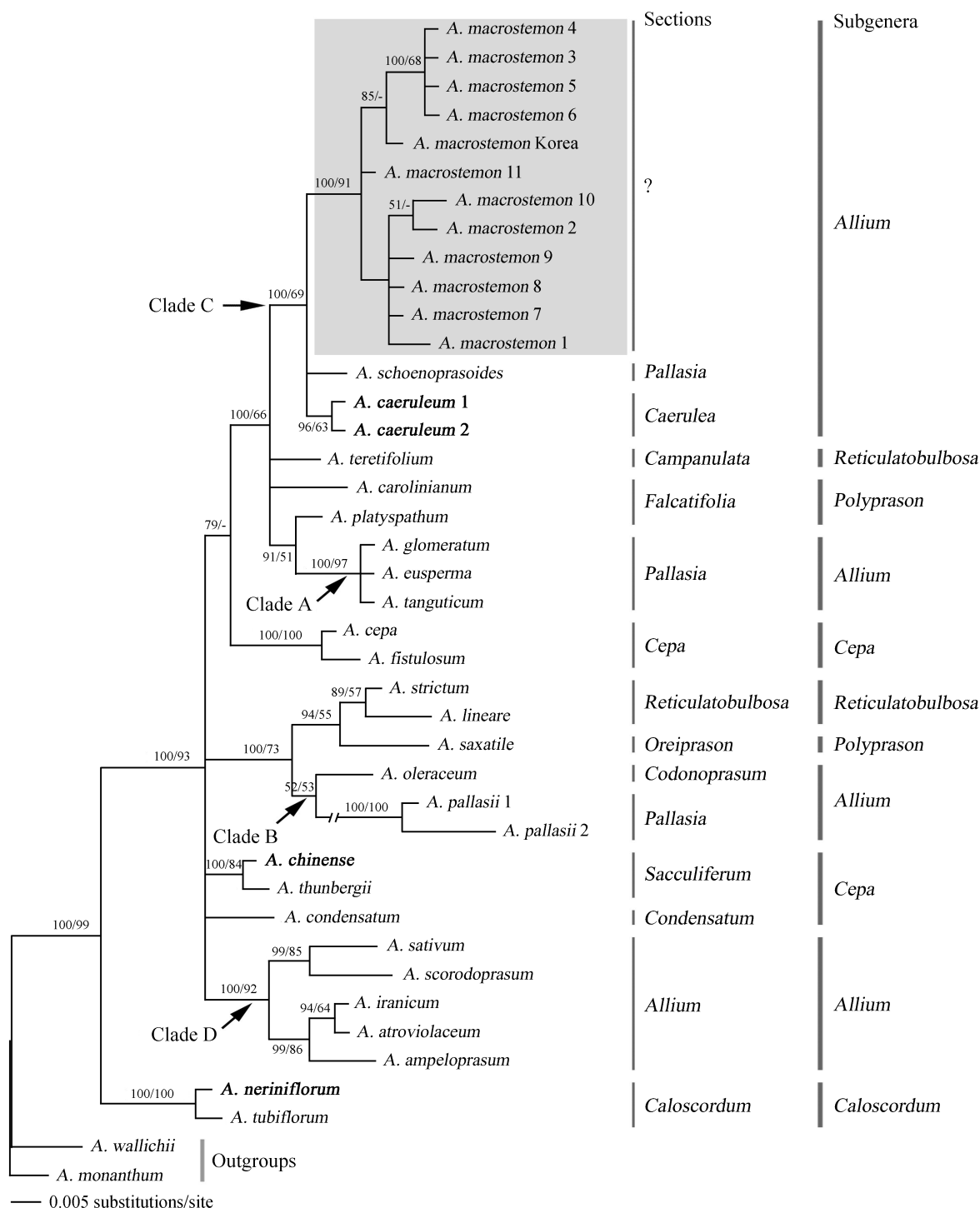


图 2 基于 *trnL-F* 序列的贝叶斯系统发育树。图例说明如图 1

Fig. 2 Phylogenetic tree derived from Bayesian analysis of the *trnL-F* sequences. The legend for figure 2 is the same as described in Figure 1

相比而言, Choi 等 (2012) 将薤白置于 *Scorodon s. l.* 组似乎是合理的, 因为薤白与该组种类总苞先端渐尖或骤尖且常比花序短、花丝简单及子房具明显凹陷的蜜腺等特征 (Brullo 等, 2001; Bogdanović 等, 2011; Koçyiğit 和 Özhatay, 2012) 颇为相似, 但该类群因形态的异质性已被拆分为若干小类群, 因此本研究亦不赞同 Choi 等 (2012) 的这一折中处理。但 Choi 等 (2012) 同时也指出, 薤白与 *Caerulea* 组的棱叶韭在花序上珠芽的发生、雌蕊形态、种子形状及种皮纹饰等方面极为相似, Mes 等 (1999) 基于叶绿体的限制性内切酶位点数据和 Li 等 (2010) 基于 *rps16* 的序列数据也支持二者密切相关。尽管本研究的 ITS 和 *trnL-F* 系统树也表明薤白与 *Caerulea* 组的种类有较近的亲缘关系, 但一些形态上差别较大的种也嵌套其中, 如类北葱, 因此本研究认为薤白应该不属于 *Caerulea* 组。就 ITS 序列来看, 薤白与 *Caerulea* 组的种类间成对的遗传距离平均高达 10.63%, 而 *Caerulea* 组内种类间成对的遗传距离平均仅 3.48%, 提示它们之间的遗传关系较远; 在地理分布上, 薤白广布于东亚, 而在系统发育上与之密切相关的种类均分布在中亚, 暗示了它们的起源可能亦不同。因此, 我们认为薤白可能代表一个新的组一级的类群 (这有别于 Friesen 等 (2006) 的观点), 但仍有待类群采样 (尤其是中亚的种类) 的增加而进行深入研究。

本研究的系统树还显示, *Pallasia* 组不为单系群, 其种类分属三个不同的分支 (Clade A-C, 图 1, 2)。Clade A 与亚属 *Reticulobulbosa* (鳞茎外皮为网状) 和 *Polyprason* (鳞茎外皮为片状破裂) 的种类似乎有密切的关系。取样的三个种传统上也被放在广义的 *Scorodon* 组内, Friesen 等 (2006) 把它们转移至 *Pallasia* 组, 但唐古韭等与小山蒜和类北葱的鳞茎被膜明显不同, 前者的鳞茎被膜纸质, 老时顶端常不规则地破裂而呈纤维状, 后者被膜膜质而不破裂 (Xu 和 Kamelin, 2000)。依据我们的系统发育树, 唐古韭等可能属于 *Polyprason* 亚属。小山蒜与类北葱形态上差别也较大, 前者鳞茎被膜常具平行脉, 总苞二裂且宿存, 子房表面具疣状突起且具凹陷蜜腺, 而后者总苞早落, 子房不具凹陷蜜腺 (Xu 和 Ka-

melin, 2000), 结合本研究结果, 我们认为类北葱不属于 *Pallasia* 组。

关于中药薤白的植物基源历来争议较多, 2010 版《中华人民共和国药典》认为其基源植物为薤白 (*Allium macrostemon* Bunge) 或藠头 (*A. chinense* G. Don), 但本草考证认为, 历史上所用中药薤白的原植物应为藠头 (正品), 而不是薤白 (祝之友, 2000; 焦阳等, 2010)。尽管在长期的应用实践中, 薤白的干燥鳞茎一直被用作中药薤白的生药来源, 但研究表明薤白与藠头在药材形态、化学成分和功效等方面均存在差异 (国家中医药管理局, 1999), 本文的分子数据也表明二者亲缘关系较远。依据中药趋向于采用单一或相近来源可同等入药的原则, 本研究不支持将薤白与藠头并作中药薤白的植物基源, 赞同将薤白另立中药名称的观点, 以与中药薤白相区分。另据《中华本草》记载, 中药薤白的生药来源还包括长梗韭和棱叶韭, 依据本研究的系统树, 这两个种与藠头亲缘关系甚远, 不宜作为中药薤白的生药原料使用。

致谢 感谢许介眉教授在标本鉴定过程中给予的指导; 感谢新疆农业大学谭敦炎教授、林辰晔博士和标本馆的邱娟女士在野外采样、标本查阅与鉴定方面提供的帮助。

〔参 考 文 献〕

- 国家药典委员会, 2010. 中华人民共和国药典, 一部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 353
- 国家中医药管理局, 1999. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, V22: 30—36
- 许介眉, 1980. 葱属 [A]// 汪发纛, 唐进. 中国植物志 (第 14 卷) [M]. 北京: 科学出版社, 202—213
- Åström H, Hægström C, 2004. Generative reproduction in *Allium oleraceum* (Alliaceae) [J]. *Annales Botanici Fennici*, **41**: 1—14
- Bogdanović S, Brullo C, Brullo S, et al., 2011. *Allium cithaeronis* Bogdanović, C. Brullo, Brullo, Giusso, Musarella & Salmeri (Alliaceae), a new species from Greece [J]. *Candollea*, **66**: 377—382
- Brullo S, Guglielmo A, Pavone P et al., 2001. Cytotaxonomical notes on some rare endemic species of *Allium* (Alliaceae) from Greece [J]. *Caryologia*, **54** (1): 37—57
- Brullo S, Guglielmo A, Pavone P et al., 2008. Taxonomic study on *Allium dentiferum* Webb & Berthel. (Alliaceae) and its relations

- with allied species from the Mediterranean [J]. *Taxon*, **57** (1): 243—253
- Burland TG, 2000. DNASTAR's Lasergene sequence analysis software [J]. *Methods in Molecular Biology*, **132**: 71—91
- Choi HJ, Giussani LM, Jang CG *et al.*, 2012. Systematics of disjunct northeastern Asian and northern North American *Allium* (Amaryllidaceae) [J]. *Botany*, **90** (6): 491—508
- Choi HJ, Oh BU, 2011. A partial revision of *Allium* (Amaryllidaceae) in Korea and north-eastern China [J]. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **167**: 153—211
- Doyle JJ, Doyle JL, 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue [J]. *Phytochemistry Bulletin*, **19**: 11—15
- Duchoslav M, 2011. Polyploid complex of *Allium oleraceum* L. in Europe [D]. Olomouc: Palacký University, 1—117
- Friesen N, 1995. The genus *Allium* L. in the flora of Mongolia [J]. *Feddes Repertorium*, **106**: 59—81
- Friesen N, Fritsch RM, Blattner FR, 2006. Phylogeny and new intra-generic classification of *Allium* L. (Alliaceae) based on nuclear rDNA ITS sequences [J]. *Aliso*, **22**: 372—395
- Fritsch RM, Friesen N, 2002. Evolution, domestication and taxonomy [A] // Rabinowitch HD, Currah L ed., *Allium Crop Science: Recent Advances* [M]. Wallingford, UK: CABI Publishing, 5—30
- Hanelt P, 1996. Taxonomic problems in Mediterranean *Allium* and relationships with non-Mediterranean *Allium* groups [J]. *Bacconea*, **5**: 259—265
- Hanelt P, Schulze-Motel J, Fritsch RM *et al.*, 1992. Infrageneric grouping of *Allium*-the Gatersleben approach [A] // Hanelt P, Hammer K, Knüpfner H ed., *The Genus Allium: Taxonomic Problems and Genetic Resources* [M]. Gatersleben, Germany, 107—123
- Hirschegger P, Jakše J, Trontelj P *et al.*, 2010. Origins of *Allium ampeloprasum* horticultural groups and a molecular phylogeny of the section *Allium* (*Allium*: Alliaceae) [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **54**: 488—497
- Jiao Y (焦阳), Yin HB (尹海波), Dong SS (董双双), 2010. *Materia medica* textual research of *Allium chinense* G. Don [J]. *Journal of Liaoning University of TCM* (辽宁中医药大学学报), **12** (7): 186—188
- Kawano S, Nagai Y, 1975. The productive and reproductive biology of flowering plants, 1: Life history strategies of three *Allium* species in Japan [J]. *Botanical Magazine*, 281—318
- Khassanov FO, 1997. Conspectus of the wild growing *Allium* species of Middle Asia [A] // Öztürk M, Seçmen Ö, Gök G ed., *Plant Life in Southwest and Central Asia* [M]. Izmir, Turkey: EGE University Press, 141—159
- Khassanov FO, 2000. Subinfrageneric grouping in genus *Allium* subgenus *Allium* [A] // Ashurmetov O, Khassanov F, Salieva Y ed., *Plant Life in Southwest and Central Asia* [M]. Proceedings of the 5th international symposium, 18-22 May 1998, Tashkent, Uzbekistan, 107—112
- Koçyiğit M, Özhatay N, 2012. *Allium maraschicum* sp. nov. (Alliaceae) from Turkey [J]. *Nordic Journal of Botany*, **30**: 553—559
- Li QQ, Zhou SD, He XJ *et al.*, 2010. Phylogeny and biogeography of *Allium* (Amaryllidaceae: Alliaceae) based on nuclear ribosomal internal transcribed spacer and chloroplast *rps16* sequences, focusing on the inclusion of species endemic to China [J]. *Annals of Botany*, **106**: 709—733
- Mes THM, Fritsch RM, Pollner S *et al.*, 1999. Evolution of the chloroplast genome and polymorphic ITS regions in *Allium* subgenus *Melanocrommyum* [J]. *Genome*, **42**: 237—247
- Nguyen NH, Driscoll HE, Specht CD, 2008. A molecular phylogeny of the wild onions (*Allium*; Alliaceae) with a focus on the western North American center of diversity [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **47**: 1157—1172
- Nylander JAA, 2004. MrModeltest 2.2. Computer program and documentation distributed by the author [Z]. Uppsala: Evolutionary Biology Centre, Uppsala University
- Ronquist F, Huelsenbeck JP, 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models [J]. *Bioinformatics*, **19**: 1572—1574
- Swofford DL, 2003. PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and other methods), version 4.0b10 [CP]. Sunderland: Sinauer Associates
- Tamura K, Peterson D, Peterson N *et al.*, 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. *Molecular Biology and Evolution*, **28**: 2731—2739
- Xu JM, Kamelin RV, 2000. *Allium* L. // Wu ZY, Raven PH ed., *Flora of China* [M], Vol 24. Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, 165—202
- Zhao LL (赵露露), Zhang ZZ (张珍珍), Chen LL (陈玲玲) *et al.*, 2012. Discovery of Heptaploid *Allium macrostemon* in Daluo Mountain, Zhejiang and the preliminary analysis on its formation mechanism [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica* (西北植物学报), **32** (11): 2206—2210
- Zhu SM (朱世梅), Xu JM (许介眉), 1999. Karyotypic differentiation in *Allium macrostemon* Bunge [J]. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报), **37**: 269—278
- Zhu ZY (祝之友), 2000. Textual research primary origin and characteristic of *Allium chinense* G. Don [J]. *Primary Journal of Chinese Materia Medica* (基层中药杂志), **14** (6): 38—39